

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 9 月 25 日現在

機関番号：27102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2012～2014

課題番号：24592992

研究課題名(和文)遊離皮弁生着率向上のための虚血再灌流障害抑制法の確立

研究課題名(英文)Prevention of ischemia-reperfusion injury in the free flap transplantation

研究代表者

笹栗 正明(Sasaguri, Masaaki)

九州歯科大学・歯学部・准教授

研究者番号：00225898

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,200,000円

研究成果の概要(和文)：遊離組織移植において皮弁の虚血を回避することはできない。本研究では組織移植における皮弁の虚血状態が皮弁生着に及ぼす影響を観察し、生着率向上のための対策を検討し以下の結果を得た。皮弁の虚血の状態は、一次虚血(PI：血管吻合までの虚血)と二次虚血(SI：血管吻合後に生じる血行障害による虚血)について検討した。PIでは2時間を越えると皮弁生着率が低下し、PIの時間が長くなるとSI後の生着率が低下した。皮弁採取後のヘパリン加生食皮弁内灌流洗浄により皮弁生着率は向上し、SIを生じても救済率が高くなった。虚血再灌流障害を抑制するためにはPIを極力短くし、皮弁採取後のヘパリン加生食処理が有効である

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study is to examine a method for ischemia by to observe the effect on the skin flap survival, and to improve the viability of the flap in tissue transplantation. States of ischemia in transplantation were divided into primary ischemia (PI:ischemia up to anastomosis) and the secondary ischemia (SI:ischemia due to blood insufficiency after anastomosis), It was examined the influence of PI and SI. If the time of the PI exceeds 2 hours, survival rate of the flap is reduced. The more time the PI is the longer the viability of the flap after the SI was lower. Treatment of the flap with heparinized saline after flap harvest, graft survival of the flap has improved, and relief rate of flap after the SI was higher. In order to prevent the ischemic-reperfusion injury in the free flap transplantation, the time of PI is as short as possible, heparinized saline treatment after flap harvest is valid.

研究分野：口腔外科

キーワード：虚血再灌流障害 微小血管吻合 遊離組織移植 血行障害

1. 研究開始当初の背景

微小血管吻合による遊離組織移植の生着率向上させるために、これまで抗凝固療法による術後管理の有用性や、術後のモニタリング法に関する多くの研究がなされてきた。申請者らは遊離組織移植による再建に携わっており、遊離組織移植の不成功の原因として術後の脈圧の関与を報告し(日口外誌 2003)、平成 19 年度から平成 22 年度までの基盤研究(B)で、術後血行監視におけるドプラー血流計を用いた術後皮弁血行障害の早期判断に関する研究を進めてきた。その結果、術後血行障害時の救済率は向上してきたが、さらなる生着率向上のためには多方面から血行障害の原因を解明し抑制法を考えて行く必要がある。

移植後血行障害の原因のひとつに虚血再灌流障害の影響が考えられている。虚血再灌流障害とは虚血状態に陥った組織に血流が再開した際に引き起こされる組織障害である。虚血再灌流障害については脳虚血後の血流再開時や臓器移植における機能障害などについては報告されているが、再建に用いられる筋皮弁に関する報告は少ない。一般に筋皮弁は虚血に対する耐容時間が長いといわれているが、虚血(初回虚血 Primary ischemia: PI)に陥った組織は程度の差はあるものの虚血再灌流障害を受ける。さらに虚血後に血流再開した組織が再び虚血に陥った場合(Secondary ischemia: SI)には虚血耐容時間は短くなり、虚血再灌流障害の様相は初回虚血(PI)とは異なるといわれている。実際の筋皮弁移植では初回吻合時虚血(PI)後の虚血再灌流障害だけでなく、移植後の血流再開後の血行障害による虚血(SI)後の虚血再灌流障害を克服する必要がある。

2. 研究の目的

本研究においては皮弁挙上から血管吻合終了までの初回虚血(Primary ischemia: PI)と吻合後に生じた血行障害による二次虚血

(Secondary ischemia: SI)の二つの虚血状態を観察する。

本研究においては研究期間内に以下のことを明らかにしたい。

1) **初回吻合時虚血(Primary ischemia: PI)が皮弁生着率に及ぼす影響**

2) **移植後血行障害(Secondary ischemia: SI)による虚血が皮弁生着率に及ぼす影響**

3) **虚血による障害の抑制方法**

3. 研究の方法

Wister rat の広背筋皮弁を用い以下の研究を行った。

【研究 1】

初回吻合時の虚血 PI と吻合後の虚血 SI における虚血時間の違いによる皮弁生着率を検討した。

PI モデル群: 皮弁挙上切離後 2 時間、4 時間、6 時間放置し血管吻合を行った。

SI モデル群: 吻合後 24 時間後に生着していた群に対し 2 時間、4 時間、6 時間血行を遮断し SI の状態を作製し、血管吻合後の血流障害の状態を再現した。

対照群: 皮弁挙上のみで 2 時間、4 時間、6 時間放置し再度定位に戻し縫合した。

【研究 2】

虚血状態の皮弁に対する皮弁処理として皮弁内の灌流洗浄を行い、洗浄液や洗浄時期の違いによる生着率の違いを検討した。

洗浄液の違いにより

ヘパリン加生理食塩水群 (heparinized saline: HS 群)

生理食塩水群 (normal saline: NS 群)

無処理群 (no treatment: NT 群) の 3 群

に分けた。さらに処置時期の違いにより

A 群: 皮弁挙上直後に洗浄した群

B 群: 血管吻合直前に洗浄した群

に分け、洗浄液と洗浄時期の違いにより以下

の5群で検討した。

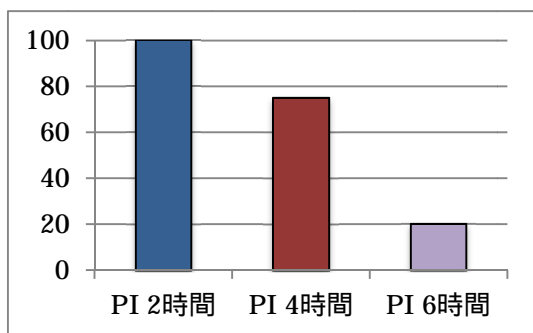
HS-A 群、 HS-B 群、 NS-A 群、
NS-B 群、 NT 群

皮弁内洗浄は 24G サーフローチューブを皮弁動脈内に挿入して洗浄液を注入し、静脈からの還流液に血液が混じらなくなるまで洗浄した。

4. 研究成果

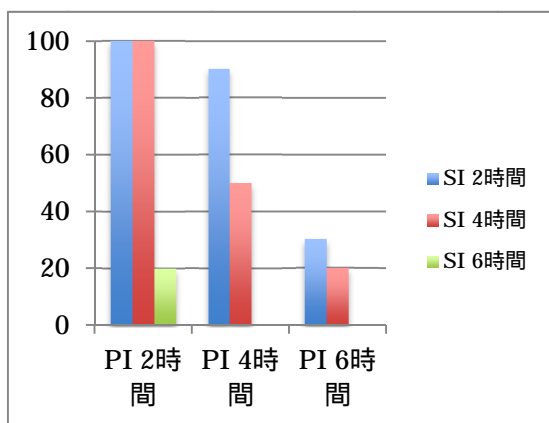
【研究 1】

PI 時間と生着率



PI は 2 時間を越えると皮弁の生着に影響がでる可能性があることが分かった。一般に組織内の血液は凝固しないといわれているが、PI は 4 時間を越えると皮弁内に微小な血栓を生じていた。

各 PI 時間に対する SI 時間と生着率



同じ虚血時間でも SI による虚血では、皮弁生着率が低下していた。このことは、吻合後に生じる虚血の方が皮弁血行障害に与える影響が大きいことを示す。

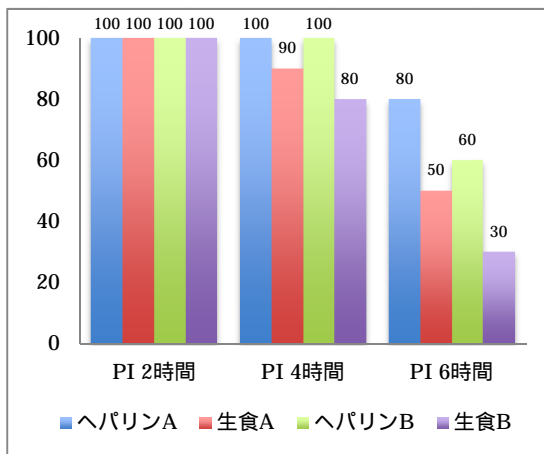
また、PI の時間が長いと SI を生じたとき

の生着率が低下し、吻合までの時間は吻合後に生じた血流障害による皮弁の生着にも影響を与えることが示唆された。

【研究 2】

皮弁採取後の各 PI 時間における皮弁処理の効果の検討

各 PI 時間における皮弁処理と皮弁生着率



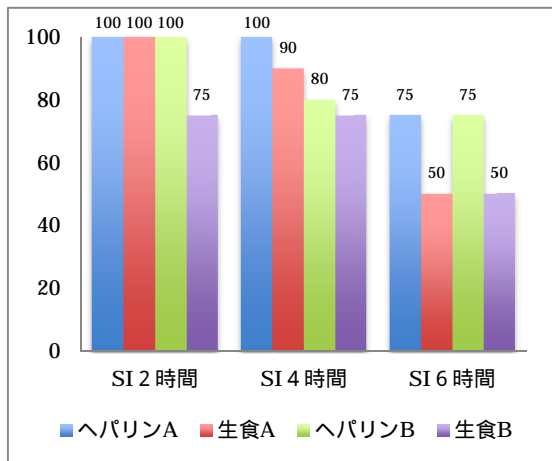
皮弁採取後 2 時間以内であれば、洗浄液がヘパリン加生食でも生食でも、洗浄時期が皮弁採取直後でも 2 時間の虚血後の吻合直前であっても生着率に差はなかった。無処理の場合は研究 1 の結果より PI4 時間の生着率 70%、PI6 時間では 20%であったのに対し、ヘパリン加生食処理群は皮弁採取直後、吻合直前のいずれも PI4 時間群は生着率 100%であり、PI6 時間でも皮弁採取直後の処理で生着率は 80%に向上していた。生理食塩水のみによる洗浄では、無処群に比べ生着率は向上したが、ヘパリン加生食群よりは生着率は低かった。

以上より、皮弁処理は生着率を向上させる事が示された。しかし、PI が 6 時間になるといずれの処理をおこなっても生着率 100%は得られなかった。

処理の方法としては皮弁採取後すぐにヘパリン加生食で皮弁内を灌流洗浄するのが最も有効であった。

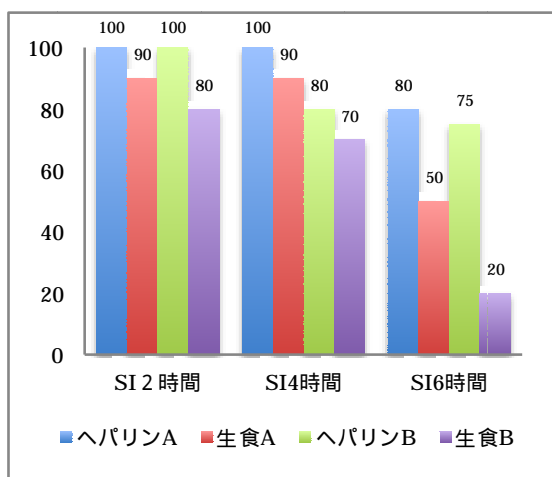
皮弁採取後の皮弁処理が SI 後の皮弁生着率に与える影響

1 .PI 2 時間における各 SI 時間での皮弁処理と皮弁生着率



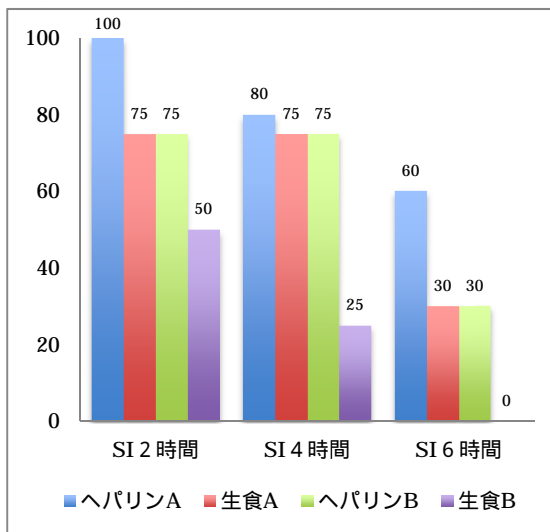
PI 2 時間では SI 2 時間まではヘパリン加生食、生食のみでも皮弁採取直後であれば、100%の生着率であった。SI 4 時間では皮弁採取直後のヘパリン加生食洗浄群で生着率 100%であった。

2 .PI 4 時間における各 SI 時間での皮弁処理と皮弁生着率



PI 4 時間では研究 1-②の結果から SI 2 時間、4 時間で生着率はそれぞれ 80%, 50%であったが、皮弁洗浄により生着率は向上していた。特に、採取直後のヘパリン加生食処理具ンではいずれも 100%の生着率であった。

3 .PI 6 時間における各 SI 時間での皮弁処理と皮弁生着率



いずれの PI 時間においても SI 時間が長くなると生着率は低下していたが、皮弁内を灌流洗浄することで、無処理群（研究 1-②の結果）と比較すると SI 後の皮弁生着率は改善された。最も効果的であったのは、被弁済種直後にヘパリン加生食で皮弁内を灌流洗浄する処理であった。

以上のことから皮弁生着率向上のためには

皮弁採取後の虚血時間を極力短くし、皮弁採取直後にヘパリン加生食により皮弁内を十分に灌流洗浄することが有効と考えられた。

【研究 3】

本研究より虚血による血行障害抑制には皮弁内洗浄が有効であることがわかった。さらに虚血時間を短くするために、吻合手技の改善による効果を検討した。

方法：自動血管吻合器を用いた血管吻合と手縫いによる血管吻合の吻合時間の比較と
対象：口腔癌切除後の微小血管吻合を用いた遊離組織移植による再建症例で自動血管吻合器使用していなかった時期の 10 例（手縫い群）と自動血管吻合器使用症例 10 例（自動吻合器群）である。

結果：

手縫いと自動血管吻合器の静脈吻合時間

	静脈吻合時間
手縫い群	38.4 ± 14.1
自動血管吻合器群	7.3 ± 4.2 *

*:P<0.01

手縫い群と自動血管吻合器群の吻合後血行障害発生

	血行障害発生
手縫い群	3 / 10
自動血管吻合器群	0 / 10

手縫い群では 25 分から 58 分とばらつきがあったのに対し、自動血管吻合器を使用した群は 5 分から 15 分とばらつきは少なく、平均時間は手縫い群で 38.4 分、自動血管吻合器群では 7.3 分であり、吻合時間は大幅に短縮された。

また、手縫いによる血管吻合は慣れるまでにはかなり練習や経験が必要で、同じ術者でも血管の条件によって吻合所要時間が大きく影響されることがある。一方自動血管吻合器の使用において、所要時間を指標にした習熟曲線は 3 回目くらいから安定した結果がえられており、自動血管吻合器の使用は比較的容易に導入できるものと考えられる。

以上のことから、虚血による影響を抑制するための皮弁挙上から吻合後の血流再開までの虚血時間の短縮には、自動血管吻合器の使用は有効な手段といえる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 1 件)

土生学、上原雅隆、笹栗正明、兒玉正明、富永和宏

口腔再建術における自動血管吻合器の使用
第 33 回日本口腔腫瘍学会総会
平成 27 年 1 月 29 日～1 月 30 日

奈良市

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

笹栗 正明 (SASAGURI Masaaki)
九州歯科大学・歯学部・准教授
研究者番号：00225898

(2) 研究分担者

光安 岳志 (MITSUYASU Takeshi)
九州大学・大学病院・助教
研究者番号：00380519

豊嶋 健史 (TOYOSHIMA Takeshi)
九州大学・歯学研究科(研究院)・助教
研究者番号：20546569

中村 誠司 (NAKAMURA Seiji)
九州大学・歯学研究科(研究院)・教授
研究者番号：60189040

(3) 連携研究者

()

研究者番号：